Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 15, No. 1, Spring 2023, p. 77-92

Effect of Encapsulated Organic Acids on Intestinal Microbial population, Blood Parameters, Digestibility of Nutrients, Carcass characteristics and Performance of Broiler Chickens

Zohre Sadeghian[1], Mohammad Kazemi Fard*[2], Mansour Rezaei[3], Seyed Ali Jafarpour[4]

Received: 12-02-2022
Revised: 07-11-2022
Accepted: 08-11-2022
Available Online: 08-11-2022

How to cite this article:
Sadeghian, Z., Kazemi Fard, M., Rezaei, m., & Jafarpour, S.A. (2023). Effect of encapsulated organic acids on intestinal microbial population, blood parameters, digestibility of nutrients, carcass characteristics and performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(1), 77-92.
DOI: 10.22067/ijasr.2022.75043.1065

Introduction: Today, livestock and poultry health in an advanced production system is a major challenge affecting human health and the global economy. Antibiotics have been used in poultry nutrition for many years. Chickens are raised with the assistance of the regular use of antibiotics, not only for the prevention and treatment of diseases but, also, for body growth. Overuse and misuse of antibiotics in animals are contributing to the rising threat of antibiotic resistance. In recent years, as a result of increasing concerns about the possibility of developing antibiotic-resistant strains, as well as the fact that they remain in animal tissues and eventually ban their use, the use of compounds such as organic acids, probiotics, prebiotics, enzymes, etc. as safe alternatives have been widely considered in poultry nutrition. Organic acids are a good alternative to antibiotics in poultry diets. These are improving the immune system of broilers by acidifying the gastrointestinal tract and improving the intestinal microflora. Organic acids cross the bacterial membrane; inside the bacterial cell, it produces hydrogen ions and bicarbonate, which eventually increases the acidity. Therefore, they force the bacteria to consume energy in order to keep the acidity constant, which leads to their death. Coating of organic acids prevents its dissociation and digestion in the stomach so that the biological effect of organic acids reaches the distal parts of the gastrointestinal tract and is effective in intestinal microflora and mucosal morphology. This study was performed to investigate the effect of encapsulated organic acids on microbial population, intestinal acidity, blood indices, nutrient digestibility, and viscosity of digestive contents, carcass characteristics and performance of broilers.

Material and Methods: 150 male broiler chickens of Ross 308 commercial strain as one-day-old were allocated in a completely randomized design with 5 treatments, 3 replications and 10 chickens per replicate. Experimental treatments included: 1. Basal diet 2. Basal diet + commercial Organic acid 3. Basal diet + Non-encapsulated organic acid 4. Basal diet + Encapsulated organic acid 5. Basal diet + encapsulated organic acid + Non-encapsulated organic acid. On day 42 of the experiment, one chickens from each experimental unit, which were close to the weight average of that unit, were selected and blood samples were taken from their wing veins. AT 42d, from each replication, a chick with the same weight as the average weight of the experimental unit was taken and their live weight was recorded and slaughtered. Also, from each replication, a chick with a weight similar

1- M.Sc. Graduated of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
4- Associate Professor, Department of Fisheries Science, Faculty of Animal Science and Aquaculture, Sari Agriculture and Natural Resources University (SANRU), Mazandaran, Iran.
***-**Corresponding Author Email: mo.kazemifard@gmail.com

to the average weight of the experimental unit was selected and their live weight was recorded and slaughtered. Then, different parts of the carcass were weighed by peeling and emptying the viscera. In order to evaluate the microbial population of the intestines of the tested broilers, at the age of 42 days, one chick from each experimental unit was selected with conditions close to the weight average of the relevant unit and after weighing, it was slaughtered. The microbial population of Lactobacillus and gram-positive and gram-negative bacteria were studied.The data were statistically analyzed by statistical software using GLM procedure. The means were compared by Duncan method at the significance level of 0.05%.

Results and Discussion: The result showed that in growth cycle, weight gain during the growth period and the whole period in the treatments containing encapsulated organic acid showed improvement and a significant difference with the control treatment. The addition of organic acids to the diet during the growth period reduced the conversion coefficient compared to the control group. Feed intake in the treatments containing capsular organic acid showed a significant decrease compare to the control group. The acidity of the duodenum and jejunum showed a significant decrease compared to the control group. The addition of encapsulated organic acids significantly reduced the total number of coliforms in the ileum and duodenum and increased the number of lactobacilli in the ileum. Also, experimental treatments increased the apparent digestibility of crude fat compared to the control group. The weight of the lymph nodes (bursa and spleen) also showed a significant increase under the influence of organic acids.

Conclusion: The results of current experimental study showed that the usage of encapsulated organic acids in broiler chicken diets, reduces the acidity of the digestive tract, reduces the intestinal microbial contamination, creates favorable conditions in the digestive system, improves digestibility of the nutrients, and performance of the bird's growing birds.

Keywords: Broiler chickens, Digestibility, Encapsulation, Microbial population, Organic Acid

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

جلد۱۵، شماره۱، بهار۱۴۰۲، ص ۹۲-۷۷

بررسی استفاده از اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد، شاخص‌های خونی، جمعیت میکروبی و گوارش‌پذیری مواد مغذی جوجه‌های گوشتی

زهرا صادقیان[۱]، محمد کاظمی فرد[۲]*، منصور رضایی[۳]، سید علی جعفرپور[٤]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۱۷

چکیده

این پژوهش جهت بررسی اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر جمعیت میکروبی، اسیدیته روده، شاخص‌های خونی، گوارش‌پذیری مواد مغذی، گرانروی محتویات گوارشی، خصوصیات لاشه و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۱۵۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه تجاری راس ۳۰۸، در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار، سه تکرار و تعداد ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- جیره پایه ۲- جیره پایه + اسید آلی تجاری ۳- جیره پایه + اسید آلی کپسوله نشده ۴- جیره پایه + اسید آلی کپسوله ۵- جیره پایه + اسید آلی کپسوله + اسید آلی کپسوله نشده بودند. افزایش وزن در دوره رشد و کل دوره در تیمارهای حاوی اسید آلی کپسوله بهبود و اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). افزودن اسیدهای آلی در دوره رشد سبب کاهش ضریب تبدیل خوراک نسبت به گروه شاهد شد. مصرف خوراک نیز در تیمارهای حاوی اسید آلی کپسوله در دوره پایانی، کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵). مصرف اسید آلی به شکل کپسوله و غیر کپسوله در تیمار پنجم باعث کاهش معنی‌دار pH در دوازدهه و ژژنوم شد (P<۰/۰۵). افزودن اسیدهای آلی کپسوله، تعداد کلی‌فرم‌ها را در ایلئوم و دوازدهه، کاهش و تعداد لاکتوباسیل‌ها را در ایلئوم نسبت به سایر تیمارها افزایش داد. هم‌چنین، افزودن اسیدهای الی سبب افزایش گوارش‌پذیری ظاهری چربی خام نسبت به شاهد شدند (P<۰/۰۵). وزن بورس و طحال نیز تحت تأثیر اسیدهای آلی افزایش معنی‌داری یافت (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج این آزمایش، اسیدهای آلی ریزپوشانی شده از طریق افزایش اسیدیته دستگاه گوارش، کاهش جمعیت میکروبی مضر روده و ایجاد شرایط مطلوب در دستگاه گوارش، سبب بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و عملکرد رشد می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اسیدآلی، جوجه‌های گوشتی، جمعیت میکروبی، ریزپوشانی، گوارش‌پذیری

۱- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری،ساری، ایران.
۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۴- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: mo.kazemifard@gmail.com)

DOI: 10.22067/ijasr.2022.75043.1065

مقدمه

امروزه سلامت دام و طیور در سیستم تولید پیشرفته، چالش اصلی تأثیرگذار بر سلامت انسان و اقتصاد جهانی است. آنتی‌بیوتیک‌ها سال‌های زیادی در تغذیه طیور به‌عنوان محرک رشد برای ایجاد ثبات در جمعیت میکروبی دستگاه گوارش و بهبود عملکرد به‌کار رفته‌اند (Hassan *et al*., 2010). در سال های اخیر استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان محرک رشد باعث ایجاد مشکلات بزرگی برای محیط زیست و سلامتی مصرف‌کنندگان شده‌است (Langhout, 2000; Ghazalah *et al*., 2011). از این رو، در نتیجه افزایش نگرانی‌ها در مورد امکان ایجاد سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و همچنین به‌واسطه باقی ماندن آن‌ها در بافت‌های حیوانی و در نهایت، ممنوع شدن کاربرد آن‌ها، استفاده از ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و... به‌عنوان جایگزین‌هایی بی‌خطر به‌طور گسترده در تغذیه طیور مورد توجه قرار گرفته است (Mellor *et al*., 2000; Garcia *et al*., 2007). در بین این موارد، اسیدهای آلی جایگزین مناسبی برای پادزیست‌ها در جیره ماکیان هستند (Gunal *et al*., 2006). اسیدهای آلی زنجیره کوتاه (C_1-C_7) و همچنین اسیدهای مونوکربوکسیلیک ساده مانند اسید فرمیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک و یا اسیدهای مونوکربوکسیلیک دارای گروه هیدروکسیل مانند اسید لاکتیک، اسید مالیک، اسید تارتاریک و اسید سیتریک فعالیت ضد میکروبی دارند (Dibner and Buttin, 2002). اسیدهای آلی به شکل اسید خالص (پودر و مایع) و یا به‌صورت نمک (خالص و یا به‌صورت نمک‌های پوشش‌دار) وجود دارند. بسیاری از آن‌ها به‌صورت نمک سدیم، پتاسیم یا کلسیم در دسترس هستند. دلیل استفاده بیشتر از نمک اسیدها این است که آن‌ها به‌طور کلی، بی بو هستند و با توجه به شکل جامد در فرآیند تولید خوراک آسان‌تر استفاده می‌شوند و کم‌تر فرار هستند؛ کم‌تر خورنده هستند و ممکن است در آب قابلیت انحلال بیشتری داشته باشند (Hu and Guo, 2007). اسیدهای آلی با اسیدی کردن دستگاه گوارش و بهبود جمعیت میکروبی روده سبب بهبود پاسخ ایمنی و عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی می‌شوند (Papatsiros *et al*., 2012). اسیدی کردن جیره سبب غلبه‌ی باکتری‌های مفید مثل *لاکتوباسیلوس*‌ها بر عوامل بیماریزای موجود در محتویات روده می‌شود (Ghazalah *et al*., 2011). اسیدهای آلی به‌صورت تفکیک نشده از غشای باکتری‌ها عبور می‌کنند. در داخل سلول باکتری، تفکیک شده و تولید یون‌های هیدروژن و بی‌کربنات می‌نمایند و با افزایش اسیدیته، سلول باکتری را مجبور می‌کنند تا برای توازن طبیعی اسیدیته انرژی مصرف کنند، از طرف دیگر یون -RCOO نیز موجب توقف یا کاهش ساخت DNA و پروتئین شده و در مجموع، رشد باکتری‌های مضر کاهش می‌یابد (Panda *et al*., 2009). سایر مزایای استفاده از اسیدهای آلی شامل بهبود واکنش آنزیم‌های هضمی، فعالیت فیتاز میکروبی، افزایش ترشح پانکراس و در نهایت، افزایش رشد موکوس روده در حضور اسیدهای آلی به‌خصوص اسیدهای چرب مانند اسید بوتیریک است؛ که در نهایت، منتج به بهبود مصرف مواد مغذی و بهبود عملکرد رشد می‌شود (Papatsiros *et al*., 2012). همچنین اسیدهای آلی با کاهش اسیدیته دستگاه گوارش منجر به کند شدن سرعت دفع مواد مغذی شده، مدت ماندگاری پروتئین را افزایش داده و در نتیجه، سبب کاهش دفع مواد مغذی نیتروژن‌دار از طریق آمونیاک می‌شود (Garcia *et al*., 2007). اسیدهای آلی پوشش‌دار نشده‌ای که به خوراک اضافه می‌شوند، به‌آسانی در بخش‌های ابتدایی دستگاه گوارش هضم می‌شوند (Bolton and Dewar, 1965)، درحالی‌که پوشش‌دار کردن اسیدهای آلی از تفکیک و هضم آن در معده جلوگیری می‌کنند تا اثر زیستی اسیدهای آلی به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش برسد و در جمعیت میکروبی روده و سطح جذبی مؤثر واقع شود (Mroz *et al*., 2006; Hu and Guo, 2007). ریزپوشانی می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد برای به تأخیر انداختن تخریب و تجزیه مواد در دستگاه گوارش فوقانی استفاده شود. ریزپوشانی روشی است که در آن ترکیبات هدف توسط دیواره پوشش داده می‌شوند که می‌توانند محتویات خود را تحت شرایط خاص با سرعت کنترل شده‌ای آزاد کنند، در این فرآیند از مواد پلیمری مانند کربوهیدرات‌ها، سلولز، لیپیدها و پروتئین‌ها برای تولید کپسول در محدوده میکرومتر تا میلی‌متر استفاده می‌شود که به‌عنوان ریزپوشانی شناخته می‌شوند (Padmaja and Jyothi, 2012). استفاده از ترکیب اسیدهای آلی ریزپوشانی شده در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود عملکرد رشد و جمعیت میکروبی آن‌ها می‌شود (Gauthier *et al*., 2007). وجود اسیدهای آلی محافظت شده در جیره سبب کاهش محتوای اشرشیاکلی در ایلئوم و افزایش محتوای *لاکتوباسیلوس* در کولون می‌شود که نشان می‌دهد اسیدهای آلی پوشش‌دار اثر بیش‌تری در ایلئوم، روده کور و روده بزرگ دارد (Bosi, 1999). با توجه به اینکه محل اصلی گوارش و جذب مواد غذایی در دوازدهه و ززنوم روده می‌باشد، بهبود رشد و تکامل بافت روده می‌تواند نقش قابل توجهی در بهبود عملکرد رشد پرنده و نیز کاهش بیماری‌ها داشته باشد و از آنجایی که ریزپوشانی سبب رهایش آهسته اسید و بهبود اثر آن‌ها در روده و دستگاه گوارش می‌شود، هدف این پژوهش، بررسی اثر بخشی اسیدهای آلی ریزپوشانی شده بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه، شاخص‌های خونی، جمعیت میکروبی و گوارش‌پذیری مواد مغذی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۱۵۰ قطعه جوجه خروس ســویه تجاری راس ۳۰۸ [۱] در پنج تیمار، سه تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصــادفی مورد آزمایش قرار گرفت. دوره پرورش در ســالن مرغداری جوجه گوشــتی واقع در دانشــگاه علوم کشــاورزی و منابع طبیعی ســاری انجام شــد. طول دوره پرورش ۴۲ روز بود. ترکیب تیمارهای آزمایشــی بدین صــورت بود: تیمار ۱: جیره پایه بدون هیچگونه افزودنی به‌عنوان شاهد (T_1)، تیمار ۲: جیره پایه + اسید آلی تجاری (T_2)، تیمار ۳: جیره پایه + اســیدهای آلی به‌فرم غیر کپســوله (T_3)، تیمار ۴: جیره پایه + اسیدهای آلی به‌فرم کپسوله (T_4)، تیمار ۵: جیره پایه + ا سیدهای آلی به‌فرم کپ سوله + ا سیدهای آلی به‌فرم غیر کپ سوله (T_5). اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره غذایی مورد ا ستفاده در دوره پرورش مطابق جدول اســتاندارد احتیاجات غذایی جوجه خروس ROSS 308 (NRC[۲], 1994) تهیه و در جدول (۱) نشان داده شد. از سه نوع جیره آغازین (۱۰-۱ روزگی)، ر شد (۲۴- ۱۱ روزگی) و پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی حاوی اسیدهای آلی از روز هشــتم دوره پرورش مورد اســتفاده قرار گرفت. جیره‌ها بر پایه ذرت و ســویا بوده و با اســتفاده از برنامه UFFDA[۳] تنظیم شــدند. در دوره آزمایش، شــرایط پرورشــی شــامل برنامه نوری، درجه حرارت و رطوبت مطابق پیشــنهادات ســویه راس اجرا شــد. دســترســی به آب و خوراک در طی دوره آزمایش آزاد بود. صــفات عملکرد رشــدی شــامل مصــرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضــریب تبدیل خوراک رکوردبرداری شـــــدند. در پایان هر دوره، برای تعیین مقدار خوراک مصــرفی هر واحد آزمایشــی (پن)، مقدار خوراک باقی‌مانده از مقدار خوراک داده شــده‌ی آن واحد کســر شــد تا مقدار خوراک مصــرفی هر واحد آزمای شی (پن) به د ست آید. جهت ریزپو شانی، ا سیدهای آلی مورد نظر، توئین ۸۰ (پلی سوربات ۸۰) و تری‌گلیسرید تهیه شد. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب دیونیزه ا ستفاده شد. ابتدا ا سیدهای آلی با آب مقطر (به نسبت ۱:۱) مخلوط نموده تا محلول اسیدی حاصل شود. ســپس محلول را به دمای ۴۰ درجه ســانتی‌گراد رســانده و به آن پلی سوربات ۸۰ و تری‌گلی سرید به‌همراه همزدن (هموژنایزر) ا ضافه شد (۲۰ دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دور در دقیقه). پس از اینکه محلول شفافی حاصل شد، از روش خشک‌کن انجمادی برای به‌دست آوردن پودر استفاده شد. در روز ۴۲ آزمایش از هر واحد آزمایشی (پن) دو قطعه جوجه نزدیک به میانگین وزنی آن واحد انتخاب و خون‌گیری از ســیاهرگ بال آن‌ها انجام شــد. به‌منظور جلوگیری از لخته شــدن خون، آن‌را در لوله‌های آزمایشــگاهی جمع‌آوری و با هپارین مخلوط شدند و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها در دستگاه ســانتریفیوژ قرار گرفت و با ســرعت (g) ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه عمل جداســازی پلاســما انجام شــد. ســپس پلاســما که به صورت مایعی شفاف، روی نمونه قرار دا شت با ا ستفاده پیپت جدا شده و در ظرف در دار مخ صوص جمع‌آوری پلا سمای خون که روی آن شماره تکرار مربوطه درج شده بود تخلیه شد. شاخص‌های خونی از قبیل گلوکز، کلســترول، تری‌گلیســرید، HDL-c[۴]، LDL-c[۵]، AST[۶]، ALT[۷] با اســتفاده از کیت‌های پارس آزمون و اســپکتروفتومتری اندازه‌گیری شــد. برای اندازه‌گیری گوارش‌پذیری چربی خام، پروتئین خام و ماده خشک جیره حاوی ۰/۳ درصد اکسید کروم به مدت ۶ روز (۲۲- ۱۷) در اختیار جو جه ها قرار گر فت که ســـه روز اول جهت عادت پذیری و ســـه روز پا یانی از مدفوع و خوراک در هر پن نمونه‌برداری شــد، نمونه فضــولات با الک ۱میلی‌متر الک ســپس در دمای ۷۰ درجه ســانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ســاعت خشــک شــدند. تمام نمونه‌ها برای تجزیه و تحلیل‌های بیشــتر در ۲۰- درجه ســانتی‌گراد نگه‌داری شــدند. غلظت کروم از طریق دســتگاه اســپکتوفتومتر (UV) خوانده شد (Fenton and Fenton, 1979; AOAC, 2006). برای محاسبه گوارش‌پذیری از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{قابلیت هضم }\% = \left(1 - \frac{\text{اکسید کرومیک جیره}(\%)}{\text{اکسید کرومیک نمونه فضولات }(\%)} \times \frac{(\%)\text{ ماده مغذی نمونه فضولات}}{\text{ماده مغذی جیره}(\%)}\right) \times 100$$

در ۴۲ روزگی از هر تکرار یک جوجه با وزنی مشابه میانگین وزن آن واحد آزمایشــی (پن) انتخاب وزن زنده آن‌ها ثبت شـــد و پس از شماره‌گذاری ک شتار شدند. پس از پو ست‌کنی و تخلیه امعا و اح شاء، لاشه، سینه، ران، چربی محوطه شکمی، سنگدان، کبد، قلب، طحال و بورس فابرسیوس با ترازوی دیجیتال وزن و به‌صورت درصدی از وزن زنده، بیان شــدند. به‌منظور بررســی وضــعیت جمعیت میکروبی روده جو جه های گوشـــتی مورد آز مایش، در ســـن ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشــی (پن) یک قطعه جوجه با شــرایط نزدیک به میانگین وزنی واحد مربوطه انتخاب و پس از توزین، ک شتار شدند. بلافا صله پس از ک شتار، حفره شکمی، د ستگاه گوارش تخلیه و ق سمت‌های دوازدهه، ایلئوم و روده کور از روده کوچک با قیچی اســتریل جدا کرده و محل بریدگی دو طرف با نخ استریل محکم بسته شد. سپس این نمونه‌ها در داخل ظرف ا ستریل قرار داده شدند. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال یافتند تا جمعیت میکروبی *لاکتوباســیلوس* و باکتری‌های گرم مثبت و منفی شــمارش شــود. نحوه کشــت میکروبی و شــمارش ریز جا نداران مورد نظر بدین صـــورت بود که: از نمو نه های اول یه، رقت‌های مختلفی تهیه نموده و از هر رقت بر روی پلیت حاوی محیط

1- ROSS308
2- National Research Council
3- User- Friendly Feed Formulation Program
4- High Density Lipoprotein
5- Low Density Lipoprotein
6- Aspartat Amino Transferase
7- Alanine Amino Transferase

کشـــت‌های نوترینت آگار[۱]، مکانگی آگار[۲] و MRS آگار کشـــت داده شـــدند (Jang *et al*., 2007) ، روش کار: ابتدا از نمونه‌ها رقت‌های یک تا هفت تهیه شـــد. از محلول ســـرم فیزیولوژی اســـتریل به‌عنوان رقیق‌کننده، استفاده شد. به این صورت که هفت لوله آزمایش دربدار حاوی نه میلی‌لیتر بافر آماده شـــد. با اســـتفاده از پیپت یک میلی‌لیتر از نمونه اولیه که حاوی یک گرم نمونه در نه میلی‌لیتر ســـرم فیزیولوژی بود، بردا شته و به لوله شماره ۱ منتقل و کاملاً مخلوط شد. به همین ترتیب از لوله شـــماره ۱، یک میلی‌لیتر به لوله شـــماره ۲ منتقل و این عمل هفت بار تکرار شد. جهت کشت از رقت چهار و پنج استفاده شد، یعنی به‌مقدار ۰/۱ سی سی از نمونه رقت تهیه شده را در داخل پلیت دارای محیط کشـــت مشـــخص ریخته و در ســـطح محیط پلیت پخش شده و سپس پلیت‌های کشت داده شده را در داخل انکوباتور ۳۷ درجه ســـانتی‌گراد قرار داده و بعد از ۴۸ ســـاعت پلیت را از انکوباتور خارج نموده و کلنی‌های تشکیل شده شمارش شدند؛ سپس لگاریتم آن‌ها محاســـبه تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (LogCFU/g) به‌دســـت آید (Jang *et al*., 2007). برای تعیین pH محتو یات ســـکدان، دوازدهه، ژژنوم، ایلئوم و ســـکوم یک گرم نمونه تازه، بلافاصـله بعد از کشـتار پرنده از قسـمت‌های مذکور نمونه‌برداری شـد و با دو میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شـــد و در نهایت، pH با اســـتفاده از دســـتگاه pH متراندازه‌گیری شد (Izat *et al*, 1990). داده‌های به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری (SAS[۳], 2002) و با اســـتفاده از رویه GLM[۴] مورد تجزیه آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد صورت گرفت. مدل آماری این طرح به‌صورت زیر است:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

در این رابطه، Yij: مشاهدات، µ: میانگین مشاهدات، Ti: اثر تیمار و eij: اثر خطای تصادفی مربوط به هر مشاهده است.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۲ نشـان می‌دهد، اثر تیمارهای آزمایشـی بر افزایش وزن دوره آغازین و پایانی معنی‌دار نبود (P >۰/۰۵)، امّا اثر تیمارها بر افزایش وزن در دوره رشـــد و کل دوره معنی‌دار بود (P <۰/۰۵)، به‌طوری که در هر دو دوره، بالاترین مقدار افزایش وزن در پرندگان مصرف‌کننده اسیدهای آلی کپسوله نشده و همچنین اسیدهای آلی کپسوله شده مشاهده شد و کمترین افزایش وزن به‌ترتیب مربوط به پرندگان تغذیه شـــده با جیره حاوی اســـید آلی تجاری و شـــاهد بود. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر مصرف خوراک در دوره آغازین و رشـــد و کل دوره نداشـــتند (P >۰/۰۵). امّا در دوره پایانی تیمارهای آزمایشـــی اثر معنی‌داری بر مصـــرف خوراک داشـــتند (P<۰/۰۵)، به‌طوری که پرندگانی که از شـــاهد تغذیه کردند، بالاترین مصـــرف خوراک و پرندگانی که از اسیدهای آلی کپسوله شده + اسیدهای آلی کپسوله نشـده تغذیه کردند، کمترین مصـرف خوراک را نشـان دادند. نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشـــی بر ضـــریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشـــتی در جدول ۲ نشـــان داده شـــده اســـت. تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک دوره آغازین، پایانی و کل دوره ندا شتند (P>۰/۰۵). در دوره ر شد اثر تیمارهای آزمایشی بر ضریب تبدیل خوراک معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)، کمترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده + اسید آلی کپسوله نشده و بالاترین ضریب تبدیل خوراک در شاهد مشاهده شد.

در تطابق با نتایج این پژوهش، افزودن ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ در صد اسید استیک (Ghazalah *et al*., 2011) و یک در صد اسید استیک در مخلوط اسیدهای آلی (Vieira *et al*., 2008) در جیره‌غذایی سبب بهبود افزایش وزن روزانه می شود. همچنین با افزودن سطوح متفاوت ۰/۱ تا ۰/۱۵ درصـــد اســـید پروپیونیک به جیره جوجه‌های گوشـــتی، افزایش رشد و بهبود افزایش وزن در دوره آغازین مشاهده شد (Roy *et al*., 2002; Khosravi *et al*., 2009). همچنین عبدلی (Abdelli *et al*., 2019) نشان داد که اسید فرمیک و تیمول بشکل پوشش دار باعث بهبود عملکرد در جوجه‌های گوشتی شد. واندرویلن (Van der Wielen *et al*., 2000) بیان کردند استفاده از اسیدهای آلی به‌واسطه افزایش تولید اسیدهای چرب در دستگاه گوارش و اثرات منفی بر باکتری‌های مضر، سبب افزایش عملکرد رشد پرنده شود (Van der Wielen *et al*., 2000). کروزر و همکاران (Kreuzer *et al*., 1988) گزارش کردند که اسـتفاده از اسـیدی‌کننده‌ها در جیره غذایی منجر به افزایش هضم پروتئین مصرفی معده می‌شود، بنابراین می‌توان دریافت که پرندگان مصرف‌کننده تیمارهای حاوی اسیدهای آلی نسـبت به پرندگان تغذیه شـده با شـاهد، پروتئین مصـرفی را با بازدهی بیشـــتری مورد اســـتفاده قرار می‌دهند که در نهایت، منجر به بهبود افزایش وزن در آن‌ها خواهد شد. استفاده از مکمل اسیدهای آلی در سطح مناسب می‌تواند سبب بهبود افزایش وزن جوجه‌های گوشتی شود که احتمالاً می‌تواند به‌دلیل بهبود مصرف غذا و هضم و جذب آن، کاهش تولید مواد سمی و افزایش جمعیت میکروبی مفید روده، کاهش وقوع عفونت‌ها و تعدیل پاسخ سیستم ایمنی طیور باشد. موضوع مهم در جیره اسـیدی شـده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مواد غذایی قابل دسترس و شاید کاهش متابولیت‌های سمی باکتری‌ها مثل آمونیاک و آمین‌ها و از این‌رو، سـبب افزایش وزن حیوان میزبان می‌شود (Thampson and Hinton, 1997).

1- Nutrient *AGAR*
2- MacConkey *AGAR*
3- Statistical Analysis System
4- Generalized Linear model

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی(درصد)

Table 1- Ingredients and chemical composition of experimental diets (percentage)

اجزای جیره Components of diet	پایانی (۴۲- ۲۵ روزگی) Finisher (42-25 d)	رشد (۲۴- ۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)	آغازین (۱۰- ۸ روزگی) Starter (8-10 d)	آغازین (۷- ۱ روزگی) Starter (1-7 d)
دانه ذرت Corn	61.62	56.61	51.79	51.79
کنجاله سویا Soya bean meal	31.11	36.32	40.40	40.40
روغن سویا Soybean oil	3.21	2.7	3	3
دی کلسیم فسفات DiCalcium phosphate	1.40	1.56	1.76	1.76
کربنات کلسیم Carbonate calcium	1.02	1.11	1.2	1.2
مکمل ویتامینی[۱] Vitamin premix[1]	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی[۲] Mineral premix[2]	0.25	0.25	0.25	0.25
دی- ال متیونین DL- methionine	0.29	0.32	0.37	0.37
ال- لیزین L- lysine (%)	0.23	0.24	0.30	0.30
ال- ترئونین L- threonine (%)	0.07	0.09	0.13	0.13
نمک Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
جوش شیرین Nahco3	0.15	0.15	0.15	0.15
ترکیب اسیدآلی Organic acid composition	0.15	0.15	0.15	_
ماسه Sand	_	_	_	0.15
ترکیب محاسبه شده Calculated analysis				
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/گرم) Metabolizable energy (Kcal/kg)	3093	2996	2900	2900
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	18.85	20.78	22.23	22.23
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.79	0.87	0.96	0.96
فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus (%)	0.39	0.43	0.48	0.48
سدیم (درصد) Sodium (%)	0.15	0.15	0.15	0.15
لیزین (درصد) Lysine (%)	1.03	1.15	1.28	1.28
آرژنین (درصد) Arginine (%)	1.11	1.24	1.34	1.34
متیونین + سیستین (درصد) Methionine + cysteine (%)	0.80	0.87	0.95	0.95
ترئونین (درصد) Threonine (%)	0.69	0.77	0.86	0.86

[۱]:مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده: ویتامین A ۱۰/۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D3 ۳۵۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E ۶۰ میلی‌گرم، ویتامین K سه میلی‌گرم، تیامین سه میلی‌گرم، ریبوفلاوین شش میلی‌گرم، پریدوکسین پنج میلی‌گرم، ویتامین B12 ۰/۰۱ میلی‌گرم و نیاسین ۴۵ میلی‌گرم.اسید پنتاتنیک ۱۱ میلی‌گرم، اسید فولیک یک میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱۵ میلی‌گرم.

[۲]: مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره تأمین‌کننده: آهن ۶۰ میلی‌گرم، منگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، روی ۶۰ میلی‌گرم، مس ۱۰ میلی‌گرم، ید یک میلی‌گرم، ید یک میلی‌گرم و کبالت ۰/۲ میلی‌گرم بود.

[1]:Each kg vitamin premix was contained: 10000 IU vitamin A; 3500 IU vitamin D3; 60 mg vitamin E; 3 mg vitamin K; 3 mg vitamin B1; 6 mg vitamin B2; 5 mg vitamin B6; 0.01 mg vitamin B12; 45 mg vitamin B3; 1 mg Folate

[2]:Each kg mineral premix was contained: 60 mg Fe; 100 mg Mn; 60 mg Zn=; 10 g Cu; 1mg I; 0.2 mg Co

جدول ۲- اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورش (گرم/روز)

Table 2- The effect of experimental treatments on the performance of broilers in different growing periods (g/day)

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی) Starter (1-10 d)			دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی) Grower (11-24 d)			دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی) Finisher (25-42 d)			کل دوره (۴۲-۱ روزگی) Total period (1-42 d)		
	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن بالاترین (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/ روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)	ضریب تبدیل خوراک (گرم/گرم) Feed conversion ratio(g/g)	افزایش وزن بدن (گرم/پرنده/روز) Body weight (g/b/day)	مصرف خوراک (گرم/پرنده/روز) Feed intake (g/b/day)
شاهد بدون افزودنی Control	1.28	20.57	26.83	1.83[a]	44.98[ab]	82.29	2.13	97.49	207.93[a]	1.92	61.09[b]	117.61
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	1.31	21.57	28.18	1.83[a]	44.51[b]	81.40	2.06	97.61	200.42[bc]	1.91	62.92[a]	120.42
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	1.27	20.72	26.42	1.73[b]	48.22[a]	83.58	2.12	96.00	203.86[ab]	1.93	63.29[a]	121.99
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	1.27	22.13	28.18	1.75[b]	48.04[a]	84.22	2.09	95.95	200.42[bc]	1.91	63.52[a]	121.15
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	1.26	21.83	27.65	1.73[b]	47.97[a]	82.88	2.06	96.07	198.22[c]	1.88	63.49[a]	119.56
SEM [1]	0.03	0.79	1.003	0.02	1.02	1.14	0.02	0.91	1.44	0.01	0.32	1.02
P-value	0.77	0.57	0.54	0.01	0.05	0.49	0.07	0.51	0.006	0.26	0.002	0.09

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ (P < 0.05).

[1] Standard error of the means

متناسب با یافته‌های ما، لیسون و همکاران (Leeson *et al.*, 2005) در مطالعه خود با جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند، پرندگان با جیره غذایی بوتیریک اسید، خوراک کمتری نسبت به پرندگان گروه شاهد مصرف کردند (Cave, 1984). استفاده از اسید پروپیونیک و اسید لاکتیک سبب کاهش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. حسن و همکاران (Hassan *et al.*, 2010) نیز دریافتند در خلال دوره پرورشی ۲۹ تا ۳۵ روزگی و کل دوره پرورشی (۳۵- ۱۴ روزگی) پرندگانی که با اسیدهای آلی تغذیه شده بودند خوراک بیشتری نسبت به گروه‌های دیگر مصرف نمودند. استفاده از ترکیب اسید آلی شامل اسید بوتیریک، اسید لاکتیک و اسید فوماریک سبب کاهش مصرف خوراک جوجه‌ها نسبت به گروه شاهد شد که می‌تواند به‌علت طعم قوی اسیدهای آلی، کاهش خوش‌خوراکی جیره در نتیجه کاهش مصرف باشد (Adil *et al.*, 2010). طبق نظر بارتو(Bartov , 1983)، افزودن اسیدهای آلی به جیره جوجه‌های گوشتی سبب دسترسی بیشتر انرژی خوراک و افزایش انرژی متابولیسمی جیره می شود. مصرف جیره با انرژی زیاد باعث توازن مثبت انرژی و تجمع چربی در بدن می‌شود (Bartov, 1983). از آنجایی‌که استفاده از اسیدهای آلی در دوره رشد سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن جوجه‌ها شد، در نتیجه بهبود ضریب تبدیل خوراک به دنبال استفاده از اسیدآلی دور از انتظار نبود. کمترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده + اسید آلی کپسوله نشده و بالاترین ضریب تبدیل خوراک در شاهد مشاهده شد. همان‌طور که نشان داده شد، استفاده از اسیدهای آلی در دوره رشد سبب بهبود معنی‌دار افزایش وزن جوجه‌ها شد، در نتیجه بهبود ضریب تبدیل خوراک به دنبال استفاده از اسید آلی دور از انتظار نبود. نوین و همکاران (Nguyen *et al.*, 2018) نشان دادند که استفاده از اسیدآلی پوشش‌دار تأثیری بر هضم‌پذیری خوراک نداشت. هو و ژو (Hu and Guo, 2007) نشان دادند مکمل‌سازی جیره با سدیم بوتیرات به‌مقدار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در کل دوره سبب افزایش ضریب تبدیل خوراک غذایی شد. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و اسیدهای آلی با کاهش عوامل بیماری‌زا، محیط میکروبی بهتری را در دستگاه گوارش پرندگان ایجاد می‌کنند که هضم، جذب و کارایی مصرف خوراک را افزایش می‌دهند (Izat *et al.*, 1990;Chichlowski *et al.*, 2007).

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی در ۴۲ روزگی جوجه‌های گوشتی در جدول ۴ گزارش شده است. در ۴۲ روزگی تیمارهای آزمایشی اثر معنی‌داری بر شاخص‌های خونی نداشتند. این نتایج در تضاد با نتایج عادل و همکاران (Adil *et al.*, 2010) و همچنین ابودابوس و همکاران (Abudabos *et al.*, 2017) بود که بیان کردند، استفاده از اسیدهای آلی، سبب ایجاد اختلاف معنی‌داری در غلظت گلوکز سرم خون جوجه های گوشتی مورد آزمایش، شد. اسید آسکوربیک، منجر به افزایش غلظت پروتئین و گلوکز سرم خون شد که این اثرات را به افزایش ظرفیت جذب مخاط روده و هضم مؤثر جیره به علت افزایش فعالیت آنزیم روده نسبت دادند (Wang *et al.*, 2010).

همچنین در جدول ۳، اثر تیمارهای آزمایشی بر ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی را نشان می‌دهد. درصد لاشه، سینه، ران، چربی محوطه شکمی، سنگدان، قلب و کبد تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$). اثر تیمارهای آزمایشی بر وزن بورس فابرسیوس و طحال معنی‌دار بود ($P<0/05$)، به‌طوری‌که جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی اسیدهای آلی کپسوله شده و اسیدهای آلی کپسوله شده + اسیدهای آلی کپسوله نشده بالاترین، و جوجه‌های تغذیه شده با جیره شاهد کمترین وزن بورس فابرسیوس را دارا بودند که ممکن است به‌دلیل افزایش تحریک سیستم ایمنی باشد که در ادامه به ان اشاره شده است. به‌علاوه پرندگانی که از جیره حاوی اسید آلی کپسوله شده و جیره شاهد استفاده کردند، به‌ترتیب بالاترین و کمترین وزن طحال را نشان دادند.

نتایج به‌دست آمده در مورد خصوصیات لاشه در توافق با گزارش ایزات و همکاران (Izat *et al* 1990) می‌باشد که عنوان نمودند، افزودن اسید پروپیونیک به جیره پرندگان، میزان چربی حفره شکمی و درصد لاشه را در انتهای دوره پرورش به صورت معنی‌دار تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. همچنین این نتایج با گزارش‌های جرونیکا و همکاران (Jeroncic *et al.*, 1991) که بیان کردند، بازدهی لاشه و همچنین درصد سینه بیش از اینکه تحت تأثیر عوامل تغذیه‌ای قرار گیرد، تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است، می‌تواند مطابقت داشته باشد.

غلظت گلوبین سرم به‌عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی مد نظر قرار می‌گیرد (Ghazalah *et al.*, 2011). این نتایج نشان می‌دهد جوجه‌هایی که از اسیدهای آلی تغذیه کردند، پاسخ ایمنی و مقاومت مطلوب‌تری در برابر بیماری دارند. افزایش وزن نسبی این اندام‌ها(تیموس، طحال و بورس) سطح گلوبین سرم به‌عنوان نشانه پیشرفت ایمونولوژیکی محسوب می شود (Ghazalah *et al.*, 2011). از طرف دیگر، اسیدهای آلی با کاهش رشد قارچ ها و جلوگیری از تولید مایکوتوکسین‌ها و اثر جمعیت باکتریایی می‌توانند با حذف باکتری‌های بیماری‌زا و حساس به اسید آلی و غالب شدن تعداد لاکتوباسیل‌ها در روده، بر روی سیستم ایمنی تأثیر بگذارند و سبب ایجاد ایمنی موثر شوند (Dorman and Deans, 2000). اگر چه تعدادی از مقالات تأثیرات معنی‌داری از اسیدهای آلی تغذیه شده بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی مشاهده نکردند (Çınar *et al.*, 2009; Adil *et al.*, 2010; Papatsiros *et al.*, 2012). نتایج اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی دوازدهه ، ایلئوم و روده کور جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ ارائه شده است.

جدول ۳- اثر سطوح مختلف مخمر اتولیز شده بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار در طول دوره آزمایش

Table 3- Effects of different levels of autolyzed yeast on the egg quality traits of laying hens during the experiment

صفت Traits	هفته Weeks	سطح مخمر اتولیز شده (سی‌سی در ۱۰۰۰ لیتر آب) Autolyzed yeas level (CC/1000L)				SEM	P-Value
		Control (0)	250	500	750		
واحد هاو Haugh unit	هفته چهارم 4^{th} week	71.60	80.16	77.91	80.10	3.52	0.282
	هفته هشتم 8^{th} week	81.85	84.00	82.90	81.50	1.84	0.770
رنگ زرده Yolk color	هفته چهارم 4^{th} week	6.79^{ab}	7.25^{a}	6.54^{ab}	6.04^{b}	0.257	0.015
	هفته هشتم 8^{th} week	6.63^{a}	6.27^{ab}	5.91^{bc}	5.58^{c}	0.149	<0.0001
مقاومت پوسته (کیلوگرم/سانتی‌متر مربع) (kg/cm^3) strength Eggshell	هفته چهارم 4^{th} week	2.01	2.01	1.70	1.98	0.197	0.171
	هفته هشتم 8^{th} week	1.29	1.63	1.40	1.24	0.158	0.316
ضخامت پوسته (میلی‌متر) (mm) thickness Eggshell	هفته چهارم 4^{th} week	0.371	0.372	0.354	0.378	0.007	0.620
	هفته هشتم 8^{th} week		0.355	0.358	0.350	0.008	0.840

$^{a-c}$ میانگین‌های هر ردیف با حروف غیرمشابه به لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (P < ۰/۰۵).

significantly (P<0.05). $^{a-c}$ Means within same row with different superscripts differ

همان‌طور که این جدول نشان می‌دهد، در جمعیت کل باکتری در سه قسمت دوازدهه ، ایلئوم و سکوم اختلاف معنی‌داری بین تیمارها م شاهده نـ شد (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نـ شان می‌دهد جمعیت لاکتوباسیل‌ها در دوازدهه و سکوم و همچنین جمعیت کلی‌فرم‌ها در سکوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد، جمعیت لاکتوباسیل‌ها در دوازدهه و سکوم؛ و همچنین جمعیت کلی‌فرم‌ها در سکوم تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). بر اساس نتایج این پژوهش، در جمعیت لاکتوباسیل‌ها در ایلئوم و جمعیت کلی‌فرم‌ها در دوازدهه و ایلئوم، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد (P<۰/۰۵). کم‌ترین جمعیت کلی‌فرم‌ها در دوازدهه نیز در تیمار حاوی اسید آلی کپسوله مشاهده شد و با شاهد و تیمار حاوی اسید آلی کپسوله نشده اختلاف معنی‌داری نشان داد. هم‌چنین کم‌ترین جمعیت کلی‌فرم‌ها در ایلئوم در تیمار حاوی اسید آلی مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، افزودن Lup rosil-NC (ترکیبی حاوی ۵۳/۳ در صد پروپیونیک)، نمک ا سید آلی و اسید استیک به جیره به‌ترتیب سبب کاهش تعداد *Escherichia coli* و کلی‌فرم‌ها در روده، افزایش تعداد لاکتوباسیل‌ها در ناحیه سکوم می‌شود (Paul *et al.*, 2007; Ghazalah *et al.*, 2011).

جدول ٤– اثر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های خونی در ۴۲ روزگی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)

Table 4- The effect experimental treatments on blood parameters in day 42-day (mg/dl)

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	فراسنجه‌های خونی در ۴۲ روزگی (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) blood parameters in day 42-day (mg/dl)					
	آلانین آمینو ترانسفراز Alanine aminotransferase (U/L)	آسپارتات آمینوترانسفراز Aspartate aminotransaminase (U/L)	پروتئین با چگالی بالا High Density Lipoprotein -c	کلسترول Cholesterol	تری گلیسرید Triglycerid	گلوکز Glucose
شاهد بدون افزودنی Control	3.33	264	78.69	152.67	60.67	211.67
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	3.33	228.67	72.03	132	62.33	186.67
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	3.66	376	71.75	133.67	51	177.33
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	4	234	78.28	143.33	56	186
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	3.66	213.67	76.68	132.33	55	196
SEM [1]	0.6	39.6	2.27	12.1	7.64	13.74
P-value	0.92	0.06	0.14	0.7	0.83	0.48

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ (P < 0.05).

[1] Standard error of the means

یویانگ همکاران (۵۲) نشان دادند که ا ستفاده از ا سیدهای الی و اسانس‌های گیاهی کپسوله شده باعث کاهش جمعیت باکتریایی در سکوم جوجه‌ها در مقایسه با شاهد شد. لنگوت (Langhout, 2000) عنوان کردند، اسیدهای آلی با ممانعت از تشکیل کلنی باکتری‌های مضر در دیواره روده، سبب کاهش تولید ترکیبات سمی در روده می‌شوند. نتایج ضعیف تیمار حاوی اسیدهای آلی کپسوله نشده می‌تواند به این علت با شد که در ق سمت‌های ابتدایی د ستگاه گوارش مانند پیش‌معده و سنگدان ه ضم و خنثی می شوند و فعالیت ز‌ی ستی آن‌ها تا قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش ادامه نمی‌یابد، بنابراین نقش آن‌ها در تغییر جمعیت میکروبی روده محدود می‌شود (Hu and Guo, 2007). محققان نشان دادند که اسیدهای آلی زنجیره کوتاه در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش طیور متابولیزه و جذب می‌شوند (Thompson and Hinton, 1997). اخیرا محققان پیشنهاد کردند که ریزپوشانی اسیدهای آلی توسط پوشش چربی سبب انتقال آن‌ها به قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش می‌شود که به اسیدها این اجازه را می‌دهد که به‌آرامی در مراحل هضم، آزاد شوند و اثرات بیشتری در د ستگاه گوارش دا شته با شند. برای ر شد هر نوع باکتری، pH خا صی در دوازدهه مورد نیاز است. بنابراین، با تغییر میزان pH دوازدهه، می‌توان نوع غالب باکتری را تغییر داد. کاهش pH در قسمت دوازدهه و ژژنوم می‌تواند یکی از دلایل اثرگذاری اسیدهای آلی بر جمعیت میکروبی د ستگاه گوارش با شد. کر سپو و همکاران (Crespo et al., 2002) گزارش کردند که یکی از اهداف اساسی در اسیدی کردن جیره طیور، کمک به غلبه باکتری‌های مفید بر باکتری‌های مضر است؛ اسیدهای آلی با کاهش pH خارج سلولی باکتری‌ها سبب اختلال در روند رشد و تکثیر باکتری‌های حساس به pH (مانند *سالمونلا* و *اشر شیاکلی*) می شود. خا صیت ضدباکتریایی ا سید آلی عمومیت ندارد، زیرا باکتری‌های لاکتوبا سیل توانایی ر شد در pHهای نسبتاً پایین را دارند و نسبت به باکتری‌های مانند *سالمونلا* و *اشرشیاکلی* مقاومت بیشتری در برابر اسیدهای آلی دارند.

جدول ۵- اثر تیمارهای آزمایشی بر گوارش‌پذیری مواد مغذی (برحسب درصد)، ویسکوزیته محتویات هضمی دستگاه گوارش (برحسب سانتی پوآز) و pH محتویات دستگاه گوارش

Table 5- The effect of experimental treatments on apparent digestibility of nutrients (%), viscosity (cp) and pH of gastrointestinal contents

تیمارهای آزمایشی Experimental diets	ویسکوزیته محتویات هضمی (برحسب سانتی پوآز) Viscosity (cp)		گوارش‌پذیری مواد مغذی (برحسب درصد) Apparent digestibility of nutrients (%)			pH محتویات دستگاه گوارش pH of gastrointestinal contents				
	محتویات ایلئوم Contents of the ilium	محتویات ژژنوم Contents of the jejunum	ماده خشک Dry matter	چربی خام Crud fat	خاکستر Ash	سکوم Cecum	ایلئوم Ileum	ژژنوم Jejunum	دوازدهه Duodenum	سنگدان Gizzard
شاهد بدون افزودنی Control (no addition)	1.60	1.35	58.07	42.61^{b}	57.49	8.0223	6.02	6.00^{ab}	6.56^{a}	3.63
اسید آلی تجاری Commercial organic acid	1.77	1.58	56.93	61.44^{b}	57.04	7.9633	5.73	6.20^{a}	6.2^{b}	3.67
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	1.90	1.47	55.66	59.1^{a}	71.93	7.9637	5.99	5.99^{ab}	6.19^{b}	3.32
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	1.48	1.32	54.93	56.65^{a}	51.30	7.7367	6.53	6.25^{a}	6.21^{b}	3.55
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	1.72	1.55	53.44	63.75^{a}	78.14	7.98	6.05	5.80^{b}	6.17^{b}	3.27
SEM [1]	0.096	0.097	7.14	3.12	11.24	0.15	0.022	0.08	0.04	0.19
P-value	0.166	0.283	0.99	0.005	0.45	0.7064	0.2109	0.0292	0.002	0.47

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b] Means within same column with different superscripts differ ($P < 0.05$).

[1] Standard error of the means

جدول ٦- اثر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت میکروبی روده (log cfu/g) جوجه‌های گوشتی

Table 6- The effect of experimental treatments on intestinal microbial population (LogCFU/g) of broilers

	سکوم Cecum			ایلئوم ileum			دوازدهه Duodenum		
تیمارهای آزمایشی Experimental diets	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria	کلی‌فرم Coliform	لاکتوباسیل Lactobacillus	باکتری کل Total bacteria
شاهد بدون افزودنی Control	5.02	6.65	6.88	4.94 [a]	4.78 [b]	5.32	4.90 [a]	4.69	5.32
اسید آلی تجاری Commercial Organic Acid	5.62	6.40	6.70	4.81 [a]	4.73 [b]	5.14	4.77 [ab]	4.84	4.78
اسید آلی غیر کپسوله Non-encapsulated organic acid	5.06	6080	6.93	4.92 [a]	4.62 [b]	5.25	4.84 [a]	4.99	4.88
اسید آلی کپسوله Encapsulated organic acid	4.17	6.57	6.63	4.37 [b]	6.00 [a]	5.01	4.46 [c]	5.11	4.72
اسید آلی کپسوله + اسید آلی غیر کپسوله Encapsulated organic acid+ Non-encapsulated organic acid	5.03	6.59	6.48	4.77 [a]	6.03 [a]	4.48	4.66 [ab]	5.10	4.63
SEM [1]	0.25	0.27	0.11	0.10	0.27	0.31	0.05	0.17	0.14
P-value	0.06	0.88	0.07	0.01	0.006	0.84	0.001	0.50	0.08

[a,b] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

[1] خطای استاندارد از میانگین

[a, b,] Means within same column with different superscripts differ (P < 0.05).

[1] Standard error of the means

یکی از مکانیسم های موثر اسید های آلی برای ازبین بردن باکتری‌ها این است که اسیدهای آلی کوتاه زنجیر نسبت به دیواره سلول باکتری نفوذپذیر هستند؛ اسیدها پس از عبور از غشای باکتری، در داخل سلول، یون هیدروژن تولید می‌کنند و موجب کاهش pH سلول می‌شود. همچنین آنیون‌های به‌وجود آمده سبب اختلال در ساخت DNA و در نتیجه، اختلال در ساخت پروتئین سلولی می‌شوند؛ در این وضعیت سلول مجبور است با صرف انرژی در تنظیم pH داخلی داشته باشد، امّا به‌علت بی‌هوازی بودن محیط، روند کاهش pH تشدید شده و در نهایت، منجر به مرگ باکتری می‌شود (Crespo et al., 2002).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، ممکن است ریزپوشانی اسیدهای آلی با جلوگیری از هضم اسیدها در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش و حفظ فعالیت زیستی آن‌ها در قسمت‌های انتهایی دستگاه گوارش سبب کاهش pH و افزایش جمعیت لاکتوباسیل‌ها و کاهش جمعیت کلی‌فرم‌ها شود. اسیدهای آلی، با ایجاد شرایط مطلوب دستگاه گوارش و افزایش گوارش‌پذیری و د ستر سی مواد مغذی سبب بهبود عملکرد رشد و افزایش پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان یک افزودنی غذایی فراسودمند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره جوجه‌های گوشتی باشند.

References

1. Abdelli. N., Pérez., J., Vilarrasa, E., Duran, D., Cabeza Luna, I., Karimirad, R., & Solà-Oriol, D. (2019). Microencapsulation improved fumaric acid and thymol effects on broiler chickens challenged with a short-term fasting period. *Frontiers in Veterinary Science*, *15*, 1-14.https://doi.org/10.3389/fvets.2021.686143.
2. Abudabos, A. M., Alyemni, A. H., Dafalla, Y. M., & Khan, R. U. (2017). Effect of organic acid blend and *Bacillus subtilis* alone or in combination on growth traits, blood biochemical and antioxidant status in broilers exposed to *Salmonella typhimurium* challenge during the starter phase. *Journal of Applied Animal Research*, *45*(1), 538-542. https://doi.org/10.1080/09712119.2016.1219665.
3. Adil, S., Banday, T., Bhat, G. A., Mir, M. S., & Rehman, M. (2010). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. *Veterinary Medicine International*, . https://doi.org/10.4061/2010/479485
4. Alp, M., Kocabagli, N., Kahraman, R., & Boston, K. (1999). Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *23*(5), 451-456.
5. AOAC International. (2006). Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, MD.
6. Ashayerizadeh, O., Dastar, B., Shams Shargh, M., & Khomeiri, M. (2008). Effect of several growth promoter additives on performance, carcass characteristics and hematological values of broiler chicks. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, *15*(5). (In persian).
7. Bartov, I. (1983). Effects of propionic acid and of copper sulfate on the nutritional value of diets containing moldy corn for broiler chicks. *Poultry Science*, *62*(11), 2195-2200.
8. Bolton, W., & Dewar, W. A. (1965). The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. *British Poultry Science*, *6*(2), 103-105.
9. Bosi, P. (1999). Feeding strategies to produce high quality pork-Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *12*(2), 271-281.
10. Cave, N. A. G. (1984). Effect of dietary propionic and lactic acids on feed intake by chicks. *Poultry Science*, *63*(1), 131-134.
11. Crespo, N. P., Puyalto, M., Carro, M. D., Ranilla, M. J., & Mesia, J. (2002). Acidos orgánicos en dietas para rumiantes. *Albéitar*, *57*, 48-50.
12. Chichlowski, M., Croom, W., Edens, F. W., McBride, B. W., Qiu, R., Chiang, C. C., & Koci, M. D. (2007). Microarchitecture and spatial relationship between bacteria and ileal, cecal, and colonic epithelium in chicks fed a direct-fed microbial, PrimaLac, and salinomycin. *Poultry Science*, *86*(6), 1121-1132.
13. Çınar, M., Çatlı, A. U., Küçükyılmaz, K., & Bozkurt, M. (2009). The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. *South African Journal of Animal Science*, *39*(3). https://doi.org/10.4314/sajas.v39i3.49152.
14. Dibner, J. J., Vázquez-Añón, M., Parker, D., Gonzalez-Esquerra, R., Yi, G., & Knight, C. D. (2004). Use of Alimet feed supplement (2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid, HMTBA) for broiler production. *The Journal of Poultry Science*, *41*(3), 213-222. https://doi.org/10.2141/jpsa.41.213.
15. Dibner, J. J., & Buttin, P. (2002). Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal of Applied Poultry Research*, *11*(4), 453-463.
16. Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile

oils. *Journal of Applied Microbiology, 88*(2), 308-316.
17. Fenton, T. W., & Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxid in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science, 59*, 631-634.
18. Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of Applied Poultry Research, 16*(4), 555-562.
19. Gauthier, R., Grill, E., & Piva, A. (2007). A microencapsulated blend of organic acids and natural identical flavours reduces necrotic enteritis-associated damages in broiler chickens. In Proc. 16th Eur. Symp. Poultry Nutrition, Strasbourg, France. 515-518.
20. Ghazalah, A. A., Atta, A. M., Elkloub, K., Moustafa, M. E. L., & Riry, F. S. (2011). Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. *International Journal of Poultry Science*, *10*(3), 176-184.
21. Gunal, M., Yayli, G., Kaya, O., Karahan, N., & Sulak, O. (2006). The effects of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *International Journal of Poultry Science, 5*(2), 149-155.
22. Hassan, H. M. A., Mohamed, M. A., Youssef, A. W., & Hassan, E. R. (2010). Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *23*(10), 1348-1353.
23. Hernandez, F., Garcia, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., & Megias, M. D. (2006). Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science, 47*(1), 50-56. https://doi.org/10.1080/00071660500475574.
24. Hu, Z., & Guo, Y. (2007). Effects of dietary sodium butyrate supplementation on the intestinal morphological structure, absorptive function and gut flora in chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *132*(3-4), 240-249.
25. Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal, 187*(2), 182-188.
26. Izat, A. L., Adams, M. H., Cabel, M. C., Colberg, M., Reiber, M. A., Skinner, J. T., & Waldroup, P. W. (1990). Effects of formic acid or calcium formate in feed on performance and microbiological characteristics of broilers. *Poultry Science*, *69*(11), 1876-1882.
27. Jang, I. S., Ko, Y. H., Kang, S. Y., & Lee, C. Y. (2007). Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology, 134*(3-4), 304-315.
28. Jeroncic, L. O., Cabal, M. P., Danishefsky, S. J., & Shulte, G. M. (1991). On the diastereofacial selectivity of Lewis acid-catalyzed carbon-carbon bond forming reactions of conjugated cyclic enones bearing electron-withdrawing substituents at the. Gamma.-position. *The Journal of Organic Chemistry*, *56*(1), 387-395. https://doi.org/10.1021/jo00001a070.
29. Khosravi, A., Beldachi, F., Dastar, B., & Hasani, S. (2009). Investigation the possibility of using nettle extract and propionic acid as suitable alternatives to antibiotic growth promoters in broiler chickens diets. *Animal Sciences Journal*.
30. Kreuzer, M., Kirchgeßner, M., & Steinhart, H. (1988). Effect of the level of energy and protein and protein supply, respectively of age on the amino acid composition of broiler chicks. *Archiv fur Geflugelkunde*, *52*(4), 133-141.
31. Langhout, P. (2000). New additives for broiler chickens. *World Poultry, 16*(3), 22-27.
32. Leeson, S., Namkung, H., Antongiovanni, M., & Lee, E. H. (2005). Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poultry Science, 84*(9), 1418-1422.
33. Mellor, J. M., Mittoo, S., Parkes, R., & Millar, R. W. (2000). Improved nitrations using metal nitrate–sulfuric acid systems. *Tetrahedron*, *56*(40), 8019-8024.
34. Mroz, Z., Koopmans, S. J., Bannink, A., Partanen, K., Krasucki, W., Øverland, M., & Radcliffe, S. (2006). Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. *In Biology of Growing Animals*, *4*, 81-133.
35. National Research Council. (1994). Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
36. Nguyen. D. N., Nguyen, K. Y., Mohammadigheysar, M., & Kim, I. H. (2018). Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. *Poultry Science, 7*, 4351–4358
37. Ndelekwute, E. K., & Enyenihi, G. E. (2017). Lime juice as a source of organic acids for growth and apparent nutrient digestibility of Broiler chickens. *Journal of Veterinary Medicine and Surgery, 1*, 1.
38. Nourmohammadi, R., Hosseini, S. M., Saraee, H., & Arab, A. (2011). Plasma thyroid hormone concentrations and pH values of some GI-tract segments of broilers fed on different dietary citric acid and microbial phytase levels. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 6*, 1-6.

39. Özek, K., Wellmann, K. T., Ertekin, B., & Tarım, B. (2011). Effects of dietary herbal essential oil mixture and organic acid preparation on laying traits, gastrointestinal tract characteristics, blood parameters and immune response of laying hens in a hot summer season. *Journal of Animal and Feed Sciences*, *20*(4), 575-586. https://doi.org/10.22358/jafs/66216/2011.
40. Padmaja, G., & Jyothi, A. N. (2012). Roots and tubers.Valorization of Food Processing By-Products, 377.
41. Panda, A. K., Rao, S. V., Raju, M. V. L. N., & Sunder, G. S. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *22*(7), 1026-1031. https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80298.
42. Paul, S. K., Halder, G., Mondal, M. K., & Samanta, G. (2007). Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *Journal of Poultry Science*, *44*(4), 389-395. https://doi.org/10.2141/jpsa.44.389.
43. Papatsiros, V. G., Christodoulopoulos, G., & Filippopoulos, L. C. (2012).The use of organic acids in monogastric animals. *Journal of Cell and Animal Biology*, *6*(10), 154-159.
44. Roy, R. D., Edens, F. W., Parkhurst, C. R., Qureshi, M. A., & Havenstein, G. B. (2002). Influence of a propionic acid feed additive on performance of turkey poults with experimentally induced poult enteritis and mortality syndrome. *Poultry Science*, *81*(7), 951-7
45. Samanta, S., Haldar, S., & Ghosh, T. K. (2008). Production and carcase traits in broiler chickens given diets supplemented with inorganic trivalent chromium and an organic acid blend. *British Poultry Science*, *49*(2), 155-163. https://doi.org/10.1080/00071660801946950.
46. SAS Institute. (2002).nSAS/STAT User's guide: Statistics.Version 9.1.4th ed. SAS Inst.Inc.
47. Talebi, E., Zarei, A., & Abolfathi, M. E. (2010). Influence of three different organic acids on broiler performance. *Asian Journal of Poultry Science*, *4*(1), 7-11.
48. Thompson, J. L., & Hinton, M. (1997). Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens on Salmonellas in the crop. British poultry science, 38(1), 59-65.
49. Van der Wielen, P. W., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A., & Van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(6), 2536-2540
50. Vieira, S. L., Oyarzabal, O. A., Freitas, D. M., Berres, J., Pena, J. E. M., Torres, C. A., & Coneglian, J. L. B. (2008). Performance of broilers fed diets supplemented with sanguinarine-like alkaloids and organic acids. *Journal of Applied Poultry Research*, *17*(1), 128-133
51. Wang, J. P., Lee, J. H., Yoo, J. S., Cho, J. H., Kim, H. J., & Kim, I. H. (2010). Effects of phenyllactic acid on growth performance, intestinal microbiota, relative organ weight, blood characteristics, and meat quality of broiler chicks. *Poultry Science*, *89*(7), 1549-1555.
52. Yu-Yun, G., Xing-Li, Z., Li-Hui, X., Hui, P., Chang-Kang, W., & Ying-Zuo, B. (2019). .Encapsulated blends of essential oils and organic acids improved performance, intestinal morphology, cecal microflora, and jejunal enzyme activity of broilers. *Czech Journal of Animal Science*, *64*(5): 189–198. https://doi.org/10.17221/172/2018-CJAS.